ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1980 N° 50

Les résidus d'antibiotiques dans les œufs de la poule pondeuse

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire

(Diplôme d'État)

présentée et soutenue publiquement

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

Jean TRUCHAUD

né le 25 Avril 1954 à PARIS (9ème)

JURY

Président : M. MONNIER
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. LABIE, M. EECKHOUTTE
Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE

IMPRIMERIE BÉGUÉ

17 RUE DE LA JEUNESSE

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0061

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1980 N° 50

Les résidus d'antibiotiques dans les œufs de la poule pondeuse

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'État)

présentée et soutenue publiquement

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

Jean TRUCHAUD

né le 25 Avril 1954 à PARIS (9ème)

JURY

Président : M. MONNIER
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. LABIE, M. EECKHOUTTE
Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE BÉGUÉ
17 RUE DE LA JEUNESSE
1980

Ministère de l'Agriculture

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M. LAUTIE
Directeurs honoraires	MM. PONS FLORIO
Professeurs honoraires	MM. BRIZARD BERTHELON SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	M. GODFRAIN
Professeur sans chaire	Mme BURGAT-SACAZE
Maître-Assistant Agrégé	M. PUYT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	MM. RICO P.
Maître de Conférences	BRAUN
Maître-Assistant	BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie Biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	MM. PAVAUX
Maître-Assistant	LIGNEREUX
Maître-Assistant	SAUTET

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire	FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé	TOUTAIN

Physiologie - Thérapeutique et
Pharmacodynamie

UNIV. LEIDEN BIBL.

.../

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire	CABANIE
Maître Assistant Agrégé	MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	MM. LABIE
Maître de Conférences	EECKHOUTTE
Maître-Assistant	Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'Origine Animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	MM. DORCHIES
Maître-Assistant	FRANC
Maître-Assistant	DUCOS DE LAHITT

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire	MM. LESCURE
Maître de Conférences	GUELFI

Sémiologie et Pathologie Médicale des
Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	MM. TOURNUT
Maître de Conférences	BEZILLE
Maître-Assistant	JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	MM. CAZIEUX
Maître-Assistant Agrégé	GENEVOIS
Maître-Assistant	AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie
Chirurgicale - Clinique

.../

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	MM.	FERNEY
Professeur sans chaire		ROYAL
Maître-Assistant Agrégé		TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	MM.	CHANTAL
Maître-Assistant		GANIERE

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	MM.	LAUTIE
Maître-Assistant Agrégé		BODIN
Maître-Assistant		PELLERIN

Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire	MM.	QUEINNEC
Professeur sans chaire		DARRE
Maître-Assistant	Mme	QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène Générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions Animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	MM.	FALIU
Professeur sans chaire		GRIESS
Maître-Assistant Agrégé		PARAGON

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 Mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924.

A MON PERE ET A MA MERE

AUX MIENS ET A MES AMIS

A Monsieur le Professeur MONNIER
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse,
qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse,
mes très respectueux remerciements.

A Monsieur le Professeur EECKHOUTTE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
qui a bien voulu faire partie du jury de cette thèse,
mes très respectueux remerciements.

A Monsieur le Professeur LABIE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
qui, en m'ouvrant les portes de son laboratoire et en me guidant tout au long de ce travail, m'a permis de le réaliser, en hommage respectueux.

A TOUS CEUX QUI ONT CONTRIBUE A LA BONNE MARCHE DE CE TRAVAIL ET PLUS PARTICULIEREMENT AU PERSONNEL DE LA CHAIRE D'HIDAOA, POUR LEUR GENTILLESSE ET POUR LEUR COOPERATION.

P L A N

INTRODUCTION

Chapitre A. ANATOMOPHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL GENITAL
DE LA POULE PONDEUSE.....page 3

Chapitre B. ANTIBIOTHERAPIE DE LA POULE PONDEUSE.....page 13

Chapitre C. RECHERCHE EXPERIMENTALE DES RESIDUS
D'ANTIBIOTIQUES.....page 21
I.Méthodologie.....page 22
II.Résultats acquis.....page 23
III.Travaux personnels.....page 29

CONCLUSION.....page 45

BIBLIOGRAPHIE.....page 46

I N T R O D U C T I O N

Le large emploi de l'antibiothérapie chez la Poule pondeuse se justifie pleinement par la gravité de certaines affections d'origine microbienne et de surinfections à composante microbienne. Cette gravité est essentiellement liée à une épidémiologie résultant des conditions de l'élevage industriel et de la concentration des animaux, qui entraînent un microbisme élevé et une virulence accrue des microorganismes.

En contrepartie, l'antibiothérapie présente deux inconvénients majeurs: d'une part, la création de souches bactériennes antibiorésistantes chez la Poule pondeuse, d'autre part, la possibilité de contamination de l'oeuf par des résidus dont les répercussions sur la santé humaine peuvent être préoccupantes, soit en raison des phénomènes de toxicité des antibiotiques, soit en raison des risques de sélection de germes antibiorésistants.

Ces risques éventuels ont incité le Ministère de la Santé Publique et le Ministère de l'Agriculture à demander que soient établis "les "tolérances et les temps d'attente à respecter pour les médicaments "vétérinaires pouvant laisser dans la chair des animaux ou dans les "produits issus de ces derniers des résidus dangereux pour la santé "des consommateurs" (PRO PHARMACOPOEA,49ème note technique).

0 0

00

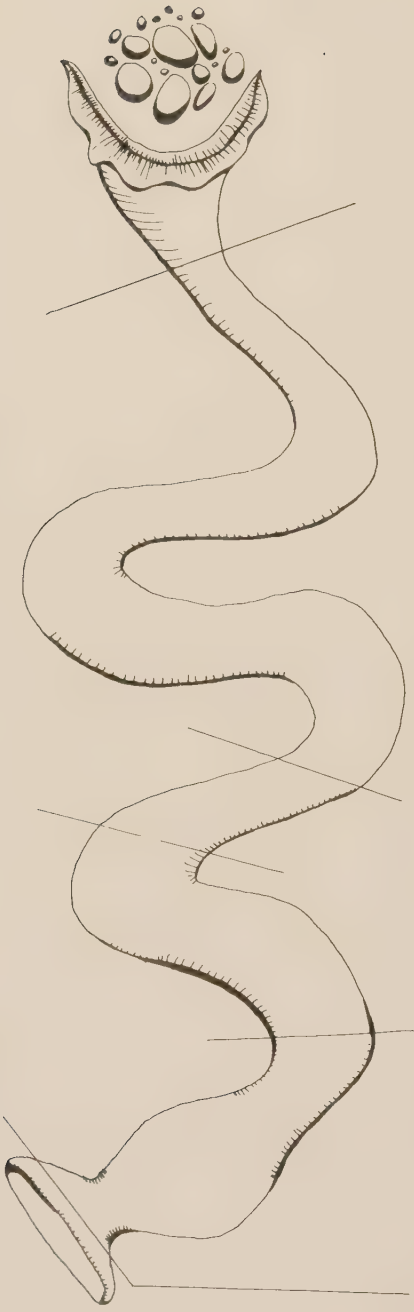
Le présent travail a eu pour but de contribuer à la recherche éventuelle de résidus de certains antibiotiques dans l'oeuf de Poule.

CHAPITRE A

ANATOMOPHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL GENITAL DE LA POULE PONDEUSE

FORMATION DE L'OEUF ET DE SES CONSTITUANTS

(BELL D.J.,1971; BLUM J.C.,1970; GRASSE P.,1950; STURKIE P.D.,1966).



OVAIRE OU "GRAPPE OVARIENNE"

PAVILLON OU INFUNDIBULUM (9 cm)
(SÉCRÉTION D'UNE PARTIE DE LA MEMBRANE VITELLINE)

MAGNUM (33 cm)
(FORMATION DE L'ALBUMEN, OVIPOSITION)

ISTHME (FORMATION DES MEMBRANES COQUILLIÈRES)

UTÉRUS (12 cm) (FORMATION DE LA COQUILLE)

VAGIN

OUVERTURE DANS LE CLOAQUE

SCHEMA GENERAL DE L'APPAREIL GÉNITAL DE LA POULE (FIGURE I)

I. ANATOMOPHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL GENITAL

(cf. Figure I : schéma général de l'appareil génital de la Poule)

1) L'OVAIRE

L'ovaire gauche est le seul ovaire développé et fonctionnel chez la Poule. L'ovaire droit n'est qu'ébauché, à peine visible chez l'adulte; il a la valeur d'un testicule rudimentaire (après ablation précoce de l'ovaire gauche, il peut évoluer en un testicule).

L'ovaire gauche a la forme d'une grappe de raisin, située en haut de la cavité abdominale, au niveau de la partie supérieure du rein. Il est formé d'un cortex, qui contient les follicules ovariens et les cellules interstitielles "corticales", et d'une medulla, qui renferme les vestiges des cordons "médullaires" et les cellules interstitielles du même nom. Le cortex est fortement découpé par des sillons nombreux et profonds, et enchevêtré avec la medulla, dont les éléments périphériques atteignent les follicules. Ceux-ci, formés d'un ovocyte et d'une couche de cellules nourricières, dites "folliculeuses", sont extrêmement nombreux. La grosse majorité de ces follicules subiront, à l'instar de ceux des Mammifères, l'atrésie, régression caractérisée par la rupture de la granulosa, l'extrusion du jaune et son élimination par des phagocytes (DAVIS,1942).

La croissance des follicules est extrêmement lente; elle peut être divisée en plusieurs étapes (nous reviendrons plus tard sur cette croissance et sur l'évolution elle-même à propos de l'oeuf). Remarquons la minceur des membranes qui entourent l'ovocyte: un épithélium folliculaire et une thèque constituée par deux assises cellulaires entre lesquelles courent les vaisseaux sanguins, sauf au niveau du "stigma", zone dévascularisée afin de permettre le déchirement et ainsi la libération du futur jaune d'oeuf dans la cavité génitale (l'ovocyte mesurant alors 40mm de diamètre).

Après la ponte de l'ovocyte, les parois folliculaires ne subissent aucun phénomène évolutif, semblable à ceux qui donnent naissance au corps jaune des Mammifères, et elles régressent, ne jouant aucun rôle par la suite.

2) L'OVIDUCTE

Il n'existe normalement chez les Oiseaux qu'un oviducte fonctionnel: l'oviducte gauche.

Chez la Poule adulte, l'oviducte mesure environ 0,2 x 18cm au repos sexuel, et 1 x 80cm en période de ponte. Son poids augmente de 50 fois entre les deux états.

On distingue dans l'oviducte 5 segments:

- Le Pavillon ou Infundibulum, largement évasé, revêtu d'un épithélium simple, vibratile, non glandulaire; ses parois sont très richement vascularisées et possèdent, peut-être de ce fait, des propriétés érectiles. Un pli péritonéal fixé au bord du pavillon contient des fibres musculaires lisses dont la contraction, lors de l'ovulation, rapproche le pavillon de l'ovaire, pour coiffer le follicule mûr et recevoir l'ovocyte au moment de la déhiscence folliculaire. Un travail relativement récent (BAIN et HALL,1969) fait jouer à l'infundibulum un rôle sécrétoire: dépôt de protéines assurant la solidité de la membrane vitelline. Cette courte portion de l'oviducte (9cm) est parcourue en un quart d'heure par l'ovocyte.

- La partie glandulaire ou Magnum, revêtue intérieurement d'un épithélium prismatique, formé de cellules ciliées et de cellules muqueuses caliciformes. Dans le chorion sous-jacent, se trouvent des glandes albuminipares (PEARL et CURTISS,1918), dont le développement et l'activité relèvent d'un conditionnement par l'hormone ovarienne et qui régressent lorsque l'ovaire revient au repos sexuel. Le jaune traverse le magnum en trois heures; c'est la portion la plus longue de l'oviducte: 33cm.

- L'Isthme, dont les cellules glandulaires, moins nombreuses qu'au niveau du magnum, sécréteront les membranes coquillières externes et internes. Certains auteurs disent qu'une petite quantité d'albumen y est sécrété, mais d'autres ne parlent que d'un léger apport en eau. L'oeuf y séjourne un peu plus d'une heure.

- L'Utérus dont la muqueuse, dotée de cellules ciliées et de cellules muqueuses, accomplira les deux fonctions, de sécréter un liquide, qui augmentera le volume de l'albumen, et de former la coquille. Le pigment de la coquille (porphyrine) y sera déposé dans les 5 heures précédant la ponte. Cette portion est courte (10-12cm), mais l'oeuf y achève sa formation au cours d'un séjour qui dure près de 21 heures.

- Le Vagin, conduit purement vecteur qui s'ouvre dans le cloaque. Jusqu'à la puberté, l'oviducte de la Poule est fermé à son entrée dans le cloaque par une membrane. Sa perforation, au moment de la puberté, serait conditionnée par une hormone ovarienne (GREENWOOD,1935).

Les différents segments de l'oviducte sont dotés de fibres musculaires lisses (progression de l'oeuf par péristaltisme), en particulier l'utérus et le vagin.

II. FORMATION DE L'OEUF

(cf. Figure II : schéma général de l'oeuf et détail des pores de la coquille)

1) FORMATION DU JAUNE

Le "jaune" n'est autre qu'un ovocyte qui, après une phase de croissance très lente, subit peu avant la ponte un accroissement considérable et très rapide.

L'ovocyte est produit pendant la gamétogenèse, étape embryonnaire qui verra, au sein du cortex ovarien, les ovogonies donner les ovocytes de première génération, qui eux-mêmes, après réduction chromatique, fourniront les ovocytes de deuxième génération.

La constitution du jaune, correspondant au développement post-embryonnaire de l'ovocyte, peut être décomposée en trois phases (MARZA et MARZA,1935):

- une période de croissance lente, par dépôt de graisses neutres, qui dure des mois voire des années;
- une phase intermédiaire, durant laquelle la plus grande partie des protéines du jaune est déposée (environ 60 jours) quelques lipides formant le "vitellus blanc";
- la période finale, de 7 à 11 jours, se terminant par l'ovulation ou l'atrésie; la plus grande partie du jaune est alors déposée et le poids de l'ovocyte passe de 0,5g à 19g. Les lipides sont alors déposés en plus grand nombre que les protéines: c'est la formation du "vitellus jaune" ou jaune véritable.

Pendant la descente à travers le magnum, l'albumen se dépose en couches concentriques. Lors de son entrée dans l'isthme, il apparaît comme homogène, avec une légère stratification: une couche interne, épaisse, gélatineuse, chalazifère; une couche moyenne, épaisse, visqueuse; enfin, une couche externe mince. L'albumen possède alors une teneur en protéines deux fois plus élevée que la concentration finale, tandis que son poids est seulement moitié de son poids terminal. Il semble aujourd'hui certain que les protéines de l'albumen sont apportées au niveau du magnum, bien que les membranes coquillières soient perméables à ces constituants. Le fait que les protéines hydrosolubles d'origine utérine soient différentes des protéines de l'albumen conforte ce point de vue.

La forme de l'oeuf est probablement acquise progressivement dans le magnum. L'isthme et l'utérus ne la modifient guère. La pointe de l'oeuf est toujours dirigée en bas, vers le cloaque.

La partie la plus interne, située au contact du jaune, du gel albuminique, se liquéfie partiellement avant que l'oeuf n'atteigne l'utérus. Il subit une ségrégation des fibres de son ovomucine. Le jaune peut ainsi se déplacer dans le blanc; les mouvements péristaltiques de l'utérus le feront tourner autour d'un axe (celui de l'utérus). Cette rotation du jaune entraîne la torsion des fibres d'ovomucine à ses deux extrémités axiales, sous forme de chalazes.

La membrane coquillière, qui se forme dans l'isthme, est constituée par deux feuillets: l'un externe, épais, l'autre interne, mince, formés l'un et l'autre d'un réseau de fibres microscopiques entremêlées et constituées par de la kératine pure.

L'oeuf passe alors dans l'utérus. Par un mécanisme encore discuté, l'albumen double de poids par acquisition d'un liquide utérin formé d'une solution de sels minéraux. Cet afflux de liquide est d'ailleurs progressivement stoppé par l'apparition de la coquille. Cette dernière comprend: une couche interne dite mamillaire, et une couche dite spongieuse, constituant les deux tiers de la coquille, ces deux couches étant formées de cristaux de calcite; elles sont sécrétées par l'utérus; une troisième couche, la cuticule, est formée d'une protéine analogue au collagène, provenant de protéines solubles ayant diffusé hors du blanc à travers la membrane coquillière et rendues insolubles par une "dénaturation de surface" au contact des cristaux de calcite. Avant la ponte, la coquille se présente comme un réseau poreux de calcite, dont les mailles sont comblées par une protéine permettant les échanges liquides et gazeux. C'est seulement dans la coquille desséchée, après la ponte, que l'on pourra parler de canalicules et de pores béants,

remplis d'air, nés du "ratatinement" de la substance protéique qui les remplissait.

III. CONSTITUANTS DU JAUNE ET DU BLANC - LEUR ORIGINE

Le Tableau I indique la composition globale de l'oeuf.

Composition (en pourcentage) de la coquille, du blanc et du jaune de l'oeuf de Poule

Catégorie chimique	Coquille	Blanc	Jaune
Eau	1.0	88.5	47.5
Protéines	4.0	10.5	17.4
Lipides	0	0	33.0
Glucides	Traces dans les protéines	0.5	0.2
Sels minéraux	95.0	0.5	1.1
Divers	0	0	0.8

T A B L E A U I

1) CONSTITUANTS DU JAUNE

La structure microscopique du jaune, connue depuis longtemps (ROMANOFF et ROMANOFF,1949), a été récemment précisée. Elle comprend de grands corps sphériques, de 25 à 150 millimicrons de diamètre, et de nombreux petits granules de 2 millimicrons, l'ensemble étant en phase continue.

Le jaune contient seulement 50 p.cent d'eau, le reste consistant presque exclusivement en protéines et en lipides à parties égales; les lipides sont sous forme de lipoprotéines.

Les protéines et les lipoprotéines sont réparties entre les structures du jaune. Les granules, qui peuvent être obtenus par centrifugation du jaune dilué, forment 23 p.cent des cellules du jaune. Ils possèdent une protéine appelée phosvitine et deux lipoprotéines de densité élevée et voisine: les lipovitellines α et β, l'ensemble formant un complexe dans lequel est présente la plus grande partie du calcium et du fer du jaune. Les granules possèdent également une petite quantité de lipoprotéines de faible densité. La phosvitine et les lipovitellines représentent respectivement environ 4 p.cent et 16 p.cent des solides du jaune.

Les sphérules du jaune ayant été détruites par centrifugation et les granules ayant sédimenté, le surnageant correspond aux sphères et à la phase continue. A partir du surnageant, on peut obtenir par flottaison en ultracentrifugation, une fraction de basse densité consistant en une lipoprotéine possédant seulement 12 p.cent de protéines. Cette fraction représente 65 p.cent des solides du jaune et 95 p.cent des lipides. Le surnageant possède aussi un groupe hétérogène de protéines solubles: les livétines, qui représentent moins de 10 p.cent des solides du jaune.

2) CONSTITUANTS DU BLANC

Le blanc, épais et visqueux, représente en poids un peu moins des deux tiers de l'oeuf. Il est constitué presque exclusivement de protéines et d'eau, dans la proportion de 1 à 8; les solides (11 p.cent du total) contiennent 92 p.cent de protéines.

Les différentes protéines et leurs propriétés physico-chimiques ont fait l'objet de nombreux travaux; certaines sont même devenues des standards biochimiques. Le Tableau II indique, pour chaque protéine, son pourcentage par rapport aux solides et ses propriétés biologiques.

Les solides non protéiniques sont constitués à parties égales de glucides et de sels minéraux.

L'albumen n'est pas physiquement homogène. Il possède deux fractions: une fraction aqueuse et une fraction gélatineuse épaisse. Elles sont séparées et ont une organisation propre. Il y a une mince membrane chalazifère, adjacente au jaune, deux chalazes fibreuses, un albumen aqueux, un albumen gélatineux épais et un albumen liquide externe. La concentration en protéines diffère très peu pour chaque couche, sauf en ce qui concerne l'ovomucine qui est quatre fois moins importante au niveau de l'albumen liquide qu'au niveau des chalazes et de l'albumen solide, ce qui leur confère leurs propriétés géloïdes.

Il convient de rappeler la présence de protéines enzymatiques et notamment du lysozyme, dont la propriété biologique la plus intéressante est la lyse de la paroi bactérienne, au cours de laquelle la d-glucosamine, l'acide maronique et les groupes réducteurs sont libérés.

3) ORIGINE DU BLANC ET DU JAUNE

On admet généralement que la synthèse des protéines du jaune se fait dans le foie et qu'elles sont transportées par voie sanguine jusqu'à l'ovaire, sous stimulation oestrogénique.

En effet, les matériaux apportés par le sang ne paraissent guère modifiés au cours de leur transfert. Plusieurs protéines du vitellus

sont identiques à celles du plasma sanguin de la Poule pondeuse: phosvitine (HEALD et McLACHLAND,1965), livétine (WILLIAMS,1962) etc... Les lipides présentent de nombreuses analogies avec ceux du plasma (LECLERCQ,1967).

Pour l'albumen , au contraire, l'oviducte joue un rôle essentiel. Les protéines sécrétées par le magnum sont très différentes de celles du plasma. Leur synthèse peut être effectuée in vivo ou in vitro à partir des acides aminés libres (MANDELESS et DUCAY,1962). De ce fait, tout facteur tendant à modifier la composition du milieu intérieur n'intervient qu'indirectement sur celle du blanc d'oeuf (BLUM,1967).

Il est bon de remarquer que l'activité de synthèse des cellules du magnum se développe sous l'action combinée de plusieurs hormones ovariennes: les oestrogènes, mais aussi la progestérone (STURKIE,1965; HAHN,1968).

En définitive, l'élaboration du blanc et du jaune est placée sous un même contrôle hormonal, mais les lieux de synthèse sont différents. De ce fait, vitellogenèse et albuminogenèse peuvent être inégalement modifiées.

L'origine exacte des constituants de l'oeuf reste encore à déterminer.

Principales caractéristiques des protéines du blanc d'oeuf			
	%	P.M.	Propriétés biologiques
Ovalbumine	54.0	46.000	
Ovotransferrine	12-13	76.600-86.000	lie le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc; peut inhiber les bactéries
Ovomucoïde	11.0	28.000	inhibe la trypsine
G^2) G^3)	4.0 4.0	Entre 36.000 et 45.000	
Lysozyme	3.4 - 3.5	14.300 - 17.000	scinde spécifiquement les β-(1-4)-D-glucosamides; lyse les bactéries
Ovomucine	1.5 - 2.9	?	Hémagglutination antivirale
Flavoprotéine	0.8	32.000-36.000	lie la riboflavine
Ovomacroglobuline	0.5	760.000-900.000	
Ovoglycoprotéine	0.5 - 1.0	24.400	
Ovoinhibiteur	0.1 - 1.5	44.000-49.000	inhibe les protéases, y compris la trypsine et la chymotrypsine
Avidine	0.05	68.300	lie la biotine
Inhibiteur de la papaïne	0.1	12.700	inhibe les protéases, y compris la papaïne et la ficine

T A B L E A U I I

CHAPITRE B

ANTIBIOTHERAPIE DE LA POULE PONDEUSE

LE PROBLEME DES RESIDUS

I. LEGITIMITE DE L'ANTIBIOTHERAPIE CHEZ LA POULE PONDEUSE

Chez la Poule pondeuse, seule l'antibiothérapie est à envisager, puisque l'antibioprophylaxie est prohibée. En effet, la supplémentation quotidienne de la ration en antibiotiques, chez une espèce produisant chaque jour des denrées alimentaires, aurait pour effet d'augmenter les probabilités d'apparition de résidus dans les produits issus de cette espèce. C'est pourquoi l'utilisation préventive d'antibiotiques est formellement bannie des programmes sanitaires d'élevage de la Poule pondeuse(Décret n°73.1101 du 28-11-1973, J.O du 15-12-1973,p.13338).

En revanche, l'antibiothérapie tient une large place dans le traitement de nombreuses affections, notamment des maladies respiratoires (pasteurelloses, M.R.C., mycoplasmoses) et digestives (colibacilloses, salmonelloses, coccidioses et complications microbiennes du parasitisme).

Ces traitements revêtent une importance différente, selon que l'on considère l'élevage traditionnel ou l'élevage industriel. En effet, en élevage traditionnel, l'un des facteurs étiologiques prédominants est la carence en vitamines, en oligo-éléments etc..., donc une hygiène alimentaire et une hygiène sanitaire insuffisantes.

Au contraire, l'élevage industriel implique une productivité élevée qui entraîne deux obligations:

- celle de pousser les animaux au rendement le plus élevé, en jouant sur l'alimentation et sur les méthodes d'élevage;
- celle d'augmenter la densité des populations d'animaux, afin de rentabiliser au maximum les locaux et la main-d'oeuvre.

De ces deux obligations découlent:

- d'une part, une multiplication des désordres physiologiques sous l'effet des stress d'élevage survenant sur des animaux ultraperformants, donc hypersensibles;
- d'autre part, un risque de contamination par divers micro-organismes augmenté par la promiscuité.

D'où une large utilisation d'antibiotiques, lorsque plusieurs individus sont atteints par l'affection. On ne soigne plus alors l'individu, mais le groupe dans sa totalité; ne pas le faire équivaudrait pratiquement à une faute professionnelle.

Les traitements de volailles en élevage industriel se pratiquent le plus souvent en incorporant les médicaments aux aliments ou à l'eau de boisson, rarement par injection, en raison du coût et du stress provoqué.

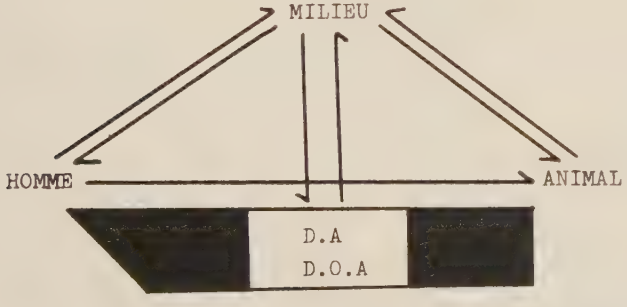
Les trois tableaux suivants sont empruntés à P.MONTLAUR (Dossiers de l'Elevage, volume 3, n°2, p.73-74-75, juin 1978). Ils permettent de connaître les principaux antibiotiques utilisés, le groupe auquel ils appartiennent, leurs dénominations chimiques, leurs caractères, leurs indications, leurs posologies et leurs modes d'emploi (voir tableaux III-IV-V).

Ces tableaux ne font pas état des associations d'antibiotiques par souci de clarté. Celles-ci sont cependant très utilisées, du fait de la synergie de certains antibiotiques, et dans le but d'étendre le spectre d'activité. On peut également associer aux antibiotiques des vitamines, des oligo-éléments, des corticoïdes, des analeptiques, des protecteurs etc...

Ces différentes médications, qu'il s'agisse d'antibiothérapie simple ou associée, doivent être appétentes et facilement incorporables aux aliments et à l'eau de boisson.

II. LE PROBLEME DES RESIDUS

Le problème des résidus s'inscrit dans celui, plus général, des inter-relations "homme-animal-milieu", représenté par le schéma ci-dessous:



D.A. : denrée animale

D.O.A.: denrée d'origine animale

TABLEAU III

UTILISATION THERAPEUTIQUE DES ANTIBIOTIQUES EN AVICULTURE.

Groupe	Noms usuels ou déposés	Dénominations Chimiques	Caractères	Indications	POSOLOGIE, FREQUENCE ET DURÉE DU TRAITEMENT		
					Injectable	Eau de boisson	Aliment
BETA-LACTAMINES	PÉNICILLINE SPECILLINE	Benzyl-pénicilline	Détruite par les sucs digestifs.	Staphylococcies streptococcies.	10 000 UI par Kg vif toutes les 3 h.	non	non
	IMOCILLINE PROCACILLINE	Pénicilline-procaïne	Élimination plus lente	idem	30 000 UI par Kg vif tous les jours 3 à 5 jours.	non	non
	BIPENICILLINE	Pénicilline-procaïne + Pénicilline G	Effet immédiat couplé avec effet retard.	idem	idem	non	non
	EXTENCILLINE	Benzathine-pénicilline	Effet retard très marqué	idem	60 000 UI par Kg vif une seule fois	non	non
	AMPICILLINE	Ampicilline	Pénicilline orale	Colibacilloses - Salmonelloses - Pasteurelloses.	10 mg/Kg vif pendant 3 j.	10mg/Kg vif ou 100mg/litre pdt 3 à 5 j.	peu usité
OLIGOSACCHARIDES	STREPTOMYCINE D. H. S. DI-HYDRO STREPTOMYCINE	Sulfate de streptomycine ou de dihydro-streptomycine Sulfate = 80% de streptomycine	Peu absorbé par le tube digestif sauf chez les poussins de moins de 15 jours.	Staphylococcies Streptococcies Colibacilloses. Maladies respiratoires.	100 mg/Kg vif soit : 1 ml/Kg vif d'une solution de 130 g de sulfate de streptomycine dans 1 litre d'eau	1 g par litre d'eau de boisson. A préparer toutes les 12 heures.	non
	NÉOMYCINE	Sulfate de néomycine = 70% de néomycine base	Peu absorbée par le tube digestif. Action locale	Large spectre. Colibacilles. Affections digestives.	non	0,25 g de néomycine base par litre d'eau pendant 3 à 5 j.	200 à 400 ppm pendant 5 à 8 jours
	SEPTIBIOTIQUE	Sulfate de néomycine diméthane sulfonate de sodium.	Néomycine injectable détoxifiées	idem	10 000 à 20 000 UI/Kg renouvelable tous les 3 jours pendant 3 jours.	non	non
	HYGROMIX	Hygromycine B	Antiparasitaire préventif.	Ascaris. Heterakis. Capillaires.	non	non	2500 g par tonne pdt 3 mois ou en perm.
	FRAMYCETINE SOFRAMYCINE	Sulfate de framycétine Néomycine B	Les mêmes que ceux de la néomycine.	Affection digestives. Coccidioses. Complications microbiennes du parasitisme.	Déconseillé toxique pour les reins.	100 à 150 mg par litre pdt 3 jours.	200 à 600 ppm pendant 3 à 5 jours
	KANAMYCINE	Sulfate de Kanamycine	Absorption digestive nulle. Bactéricide.	Affections digestives. Affection résistantes aux pénicillines.	non usité	non usité	non usité
CHLORAMPHENICOL	CHLORAMPHÉNICOL	Palmitate, ou succinate de chloramphénicol	Obtenu par synthèse Absorption digestive rapide	Très large spectre Gram + et gram – Colibacilles et Salmonelles. Toutes infections	50 à 150 mg par Kg vif.	0,7 g à 1 g par litre d'eau de boisson 3 à 5 jours + 0,5 g de cyclamate ou 20 g de sucre par litre d'eau	peu usité

TABLEAU IV

UTILISATION THERAPEUTIQUE DES ANTIBIOTIQUES EN AVICULTURE (suite)

Groupe	Noms usuels ou déposés	Dénominations chimiques	Caractères	Indications	POSOLOGIE, FREQUENCE ET DURE DU TRAITEMENT		
					Injectable	Eau de boisson	Aliment
MACROLIDES	SPIRAMYCINE	Spiramycine adipate ou embonate.	Bactériostatique et bactéricide. Active sur gram positif et mycoplasmes.	Maladies respiratoires. Synovite infectieuse.	25 à 50 mg/Kg soit 0,5 à 1 ml par Kg de solution à 5 %. 2 fois à 8 jours d'intervalle.	0,40 g par litre d'eau de boisson. Pendant 3 jours.	200 à 400 ppm pendant 3 à 8 jours
	ERYTHROCINE KIROMYCINE GALLIMYCINE	Thyocyanate.. glutamate... d'érythromycine	Active sur gram positif et mycoplasmes	Maladies respiratoires Staphylococcies.	25 mg/Kg vif.	0,50 g par litre d'eau de boisson pendant 3 jours.	200 à 400 ppm pendant 3 à 8 jours
	TYLAN TYLOSINE	Tylosine base et Tartrate de tylosine.	Mycoplasmes	Maladies respiratoires	25 mg/kg vif (1ml de solution sans dépasser 2,5 ml). Dindon 1/2 dose sans dépasser 3 ml.	0,50 g par litre d'eau de boisson pendant 3 à 5 j.	200 à 400 ppm pendant 3 à 8 jours
	T.A.O. SIGMAMYCINE MATROMYCINE	Oléandomycine	Absorbé par voie digestive. Synergique avec tétracycline. Antiinflammat.	Staphylococcies Associations d'antibiotiques	Intraveineux inusité	30-50 mg/kg inusité	utilisé en facteur de croissance
	LEUCOMYCINE	Leucomycine	Complexe antibiotique. Active sur gram positifs et mycoplasmes	Maladies respiratoires. Staphylococcies Arthrites.	15 000 UI par Kg vif.	18 000 à 36 000 UI par Kg vif pdt 3 à 5 j.	300 ppm
SYNERGISTINES	VIRGINIA-MYCINE	Virgimycine	Active sur Gram positifs et mycoplasmes	Entérites.	non	non	200 ppm ou facteur de croissance
	PYOSTACINE	Pristinamycine	Active sur Staphylocoques et Hemophilus.	Staphylococcies. Inusitée en vétérinaire.	non	50 mg/kg	non
TETRACYCLINES	TETRACYCLINE	Tétracycline	Large spectre. Toutes voies d'administration.	Toutes infections	5 à 10 mg/Kg	0,50 g par litre d'eau de boisson pendant 3 à 5 j.	200 à 400 ppm pendant 5 à 8 jours
	TERRAMYCINE TERRA-FLAVINE	Oxy-tétracycline	idem	idem	Solution 50mg/ml Poules,Canards : 0,50ml/Kg et par 24 heures Dindons, Oies : 0,20 ml/Kg et par 24 heures	0,50 g par litre d'eau de boisson pdt 3 à 5 jours soit 600 g de Terra 8 % pour 100 litres.	300 à 600 ppm pendant 5 à 8 jours
	AURÉOMYCINE	Chlor-tétracycline	Idem	Très actifs sur Haemophilus. Toutes infections Thérapeut. locale.	inusité	inusité	300 à 600 ppm pendant 5 à 8 jours
	AMPLICIDINE	Méthylesculetol. monoéthanoate de tétracycline	Large spectre. anti-inflammatoire. Vitaminique P	Affections respiratoires.	25mg/Kg vif soit 1 ml/kg de solution à 2,5% ou 0,25ml/kg de solution à 10%.	0,30 g/litre soit 6 ml de solution à 50g par litre pdt 3 à 6 jours.	200 ppm peu usité

TABLEAU V

UTILISATION THERAPEUTIQUE DES ANTIBIOTIQUES EN AVICULTURE (fin)

Groupe	Noms usuels ou déposés	Dénominations chimiques	Caractères	Indications	POSOLOGIE, FREQUENCE ET DURE DU TRAITEMENT		
					Injectable	Eau de boisson	Aliment
POLYPEPTIDES	COLIMYCINE BELCOMYCINE AVICOLI	Colistine	Très actif sur le colibacille, les salmonelles et le pseudomonas. Pas d'absorption digestive.	Colibacilloses	50 000 UI/Kg soit 0,5 ml/kg de la solution à 100 000 U au cm3 2 fois à 8 jours d'intervalle.	même posologie qu'en injectable pdt. 3 à 5 j.	60 à 150 ppm pendant 3 à 6 jours
	PRIMIXINE POLYMYXINE	Polymyxine B	Pas d'absorption digestive. Active sur colibacille et tous Gram négatifs. Assez toxique.	Colibacilloses	non	1 à 4 mg par kg vif.	non
	SOLUTRICINE TYROTHRICINE	Tyrothricine	à usage externe seulement du fait de sa toxicité	Infections locales - Abcès	non	non	non
	BACITRACINE	Bacitracine	Peu d'absorption digestive. Spectre d'action parent des pénicillines. Usage externe.	Staphylococcies cutanées.	non	non	Facteur de croissance
DIVERS	SPECTAM	Spectinomycine	Large spectre. Mycoplasmes.	Maladies respiratoires. Pasteurellose. Arizona.	10 mg/kg soit 0,5ml/kg d'une solution diluée à 20 mg par ml.	0,50 g/litre soit 1 g de poudre soluble prête à l'emploi	non
	LINCO-SPECTINE	Lincomycine chlorhydrate + Spectinomycine sulfate.	Large spectre. Mycoplasme.	M R C Sinusite des dindons - Colibacillose - Synovite et arthrite.	non	1 g/litre pendant 7 jours.	50 ppm pendant 8 jours
	MYCOSTATINE	Nystatine	Très peu absorbée par l'intestin. Antifongique des levures aux champignons.	Candidoses. Entérites mycosiques.	non	non	Préventif 50ppm pdt 6 sem. curatif 100 ppm pdt 7 à 10 j
	CATHOMYCINE	Novobiocine	Action semblable à celle de l'érythromycine associée aux tétracyclines.	Staphylococcies	inusité	inusité	inusité

Retrouvé 9

Pratiquée chez l'animal, l'antibiothérapie peut:

- d'une part, aboutir à la sélection de souches antibiorésistantes chez l'animal, qui pourront éventuellement être retrouvées dans les denrées alimentaires;
- d'autre part, conduire à une contamination des denrées alimentaires animales ou d'origine animale par des "résidus"

Selon la 49ème note technique PRO PHARMACOPOEA, note à laquelle nous aurons l'occasion de nous référer par la suite, on entend par résidus "les substances médicamenteuses, ainsi que leurs métabolites, "qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires "provenant de l'animal auquel le médicament en cause a été administré "conformément au mode d'emploi recommandé. Les résidus de médicaments "dans les produits d'origine animale sont en quantités trop faibles "pour provoquer des accidents aigus chez les consommateurs. En fait, "le danger résulte essentiellement de l'absorption de doses journalières "répétées, pouvant entraîner des effets nocifs à long terme".

Cette éventuelle toxicité à long terme des résidus est, dans le cas de la présente étude, de deux ordres:

- d'ordre allergique: chez un individu, se développe une sensibilisation progressive et la crise allergique pourra être déclenchée par un traitement ultérieur, sous forme:
  - d'éruptions cutanéomuqueuses
  - de réactions fébriles
  - de troubles de type sérique
  - de chocs anaphylactiques (parfois mortels)
  - d'éosinophilie
- d'ordre bactériologique:
  a) destruction des flores commensales ou substitution de flore, notamment dans le cas des antibiotiques à large spectre; on observe alors des troubles du transit intestinal ou/et des lésions cutanéomuqueuses par avitaminose, ou développement de mycoses;
  b) sélection de souches antibiorésistantes, ce qui pourrait accentuer le problème déjà grave en milieu hospitalier: "il "n'y a plus aujourd'hui d'antibiotiques entièrement fiables "utilisables dans la pratique courante" (CHABBERT, 1976).

Il faut donc diminuer le risque de passage de résidus dans les denrées d'origine animale, en fixant provisoirement un "temps d'attente", c'est-à-dire le "délai minimum qui doit s'écouler entre le "moment de la dernière administration à un animal et le moment où les "produits provenant de cet animal (viandes, abats, lait, oeufs) peuvent "être récoltés en vue de la consommation". Certaines réglementations

imposent en outre l'absence de résidus décelables par la méthode de dosage la plus sensible.

Le temps d'attente doit être prolongé pour les médicaments présentant des risques allergisants chez l'homme ou risquant de provoquer des antibiorésistances croisées; il doit également être prolongé afin d'encourager en médecine vétérinaire la recherche et l'emploi d'antibiotiques originaux par rapport à ceux généralement utilisés en médecine humaine.

Il reste donc à définir les méthodes et les techniques de dosage de ces résidus, et à utiliser ces procédés pour rechercher le temps au bout duquel la denrée n'en contiendra plus, le temps d'attente proprement dit restant à être officiellement fixé par la suite.

CHAPITRE C

RECHERCHE EXPERIMENTALE

DES RESIDUS D'ANTIBIOTIQUES

I. METHODOLOGIE (Pharmacopée Française, IXème édition, 1976, p.1601-12)

D'une façon générale, le protocole expérimental consiste à administrer à un lot de poules un antibiotique donné, à une posologie donnée, puis à rechercher périodiquement (par exemple, tous les jours) pendant un temps donné, la présence éventuelle de résidus, en ayant recours à une technique analytique qui peut varier selon les produits et les équipements du laboratoire.

Les techniques analytiques sont de deux ordres, chimique et microbiologique:

1) Les techniques chimiques ne sont pratiquement pas utilisées, car, si elles sont a priori plus exactes, elles sont aussi plus complexes et plus coûteuses. Néanmoins, elles devraient être de règle pour le chloramphénicol et pour les sulfamides, car ces deux substances peuvent soit ne pas être détectables microbiologiquement, soit donner lieu à des résultats très inconstants si l'on s'en rapporte à ce que l'on a constaté chez les ruminants (NOUWS, 1979).

2) Les techniques microbiologiques sont des méthodes indirectes: on révèlera la présence d'un antibiotique dans un échantillon donné et on évaluera sa concentration, en comparant l'action antibactérienne de l'échantillon à celle d'une gamme-étalon.
Les méthodes microbiologiques comprennent des techniques turbidimétriques et des techniques par diffusion:

   a) Les techniques turbidimétriques consistent à préparer, d'une part une dilution en milieu nutritif liquide de l'échantillon et du germe sensible à l'antibiotique étudié, d'autre part plusieurs dilutions à des titres croissants de l'étalon-antibiotique dans le même milieu et avec le même germe.
   Au bout d'un certain temps d'incubation, on pourra comparer les concentrations en germes des différents tubes au moyen d'un photomètre.

   b) Les techniques par diffusion sont de loin les plus employées.
   Elles consistent à disposer, selon des procédés variables, à la surface d'un milieu nutritif gélosé ensemencé avec le germe sensible, des solutions de l'antibiotique à diverses concentrations et, après un temps d'incubation donné, à apprécier l'importance de l'inhibition de la croissance

bactérienne, caractérisée par l'apparition d'une zone claire circulaire dont le diamètre sera proportionnel (dans une large gamme de dilutions) au logarithme de la concentration correspondante. Par ce procédé, à l'aide d'une série de dilutions de l'étalon et d'après les différents diamètres des zones d'inhibition obtenues avec chaque dilution, on pourra établir une courbe-étalon qui permettra de déterminer soit la concentration de l'antibiotique dans l'échantillon , soit la concentration minimale en antibiotique décelable.

On peut noter qu'il existe aussi une méthode de détection des résidus d'hygromycine B dans l'oeuf de Poule, utilisant la chromatographie sur plaque, méthode nécessitant un appareillage très complexe (BEGUE et KLINE,1973).

II. RESULTATS ACQUIS

L'étude des travaux réalisés à l'étranger et des résultats obtenus en France apporte déjà des données sur les temps d'attente qui pourraient être proposés.

1. Résultats acquis à l'étranger

   Ces résultats sont reproduits dans les tableaux VI,VII,VIII,IX; ils sont classés par antibiotique.

   Il est à noter que les résultats obtenus sont très variables, non seulement d'un antibiotique à l'autre, mais aussi pour un même antibiotique selon les auteurs.

   Il est intéressant de remarquer que les résidus apparaissent d'abord dans le blanc, puis dans le jaune.

2. Résultats acquis en France

   Ces résultats sont reproduits dans le tableau X.

T A B L E A U V I

Antibiotique	Posologie	Taux ou présence d'inhibition	Auteurs
PROCAINE-PENICILLINE G	100 ppm	pas de résidus (contrôle pendant 1 mois)	KATZ et coll., 1973
" " " " "	300.000 U.I 3 jours par sonde oesophagienne	blanc: inhibition partielle le 3ème jour jaune: " " " " " " 4ème jour	SCHELLHAAS, 1974
" " " " "	200.000 U.I 2 jours I.M.	blanc: inhibition partielle les 2 et 3ème jour jaune: inhibition partielle les 5 et 6ème jour	SCHELLHAAS, 1974
" " " " "	300.000 U.I 1 jour I.M.	blanc: inhibition partielle le 1er jour jaune: inhibition partielle les 4 et 5ème jour	SCHELLHAAS, 1974
SPIRAMYCINE	85 mg 1 jour I.M.	blanc: inhibition partielle les 2-5-6-7-8-9-10ème jour jaune: pas de résidus décelables	SCHELLHAAS, 1974
" " "	125 mg 3 jours par sonde oesophagienne	blanc:-inhibition partielle les 2-7-8-9-10ème jour -inhibition totale les 3-4-5-6ème jour jaune: absence de résidus décelables	SCHELLHAAS, 1974

T A B L E A U V I I

Antibiotique	Posologie	Taux ou présence d'inhibition	Auteurs
SPIRAMYCINE (suite)	100 mg/kg 1 jour S.C.	présence de résidus pendant 13 jours	
" " "	200 mg/kg 1 jour S.C.	présence de résidus pendant 13 jours	
" " "	400 mg/kg 3 jours dans l'eau de boisson	présence de résidus pendant 24 heures	
STREPTOMYCINE	300 mg/kg	blanc: -inhibition totale les 2-3-4-5ème jour -inhibition partielle les 6-7ème jour jaune: inhibition totale du 4 au 10ème jour	SCHELLHAAS, 1974
" " " "	350 mg 3 jours par sonde oesophagienne	blanc: pas de résidus décelables jaune: pas de résidus décelables	SCHELLHAAS, 1974
TYLOSINE	200 mg 3 jours par sonde oesophagienne	blanc: inhibition partielle les 2-3-4ème jour jaune: pas de résidus décelables	LUCAS, 1964

T A B L E A U V I I I

Antibiotique	Posologie	Taux ou présence d'inhibition	Auteurs
CHLORAMPHENICOL	40 ppm 120 heures dans l'eau de boisson	blanc:-0,17ppm à le 80ème heure -absence de résidus décelables 76 heures après la fin du traitement jaune: 0,33ppm à la 128ème heure, traces 108 heures après la fin du traitement	SCHELLHAAS, 1974
" " " " "	50 mg 3 jours par sonde oesophagienne	blanc: absence de résidus décelables jaune: absence de résidus décelables	SCHELLHAAS, 1974
TETRACYCLINE	25 mg/kg dans l'eau de boisson	blanc: -après traitement de 5j.: inhibition 8h. après le premier traitement -après traitement de 3j.: inhibition 24h. après le premier traitement -pour les deux: plus d'inhib. 96h. après la fin de chaque traitement jaune: -après traitement de 5j.: négatif après 240h. -après traitement de 3j.: négatif après 216h. -pour les deux: inhibition 120h. après le premier traitement	ANHALT et coll., 1976

T A B L E A U I X

Antibiotique	Posologie	Taux ou présence d'inhibition	Auteurs
TETRACYCLINE (suite)	50 mg/animal 3 jours par sonde oesophagienne	blanc: absence de résidus décelables jaune: absence de résidus décelables	SCHELLHAAS, 1974
AUREOMYCINE	30 et 300ppm 8 jours dans les aliments	blanc: concentration inférieure à 0,3ppm	PFAENDLER et coll., 1973
CHLORTETRACYCLINE chl.	75 mg/animal 3 jours par sonde oesophagienne	blanc: absence de résidus décelables jaune: absence de résidus décelables	SCHELLHAAS, 1974
OXYTETRACYCLINE chl.	25 à 400ppm 6 semaines dans les aliments	blanc: absence de résidus décelables jaune: absence de résidus décelables	KATZ et coll., 1973

T A B L E A U X

Antibiotique	Posologie	Taux ou présence d'inhibition	Auteurs
AMPICILLINE	7 mg/kg/jour 3 jours dans l'eau de boisson	pas d'activité inhibitrice dans le mélange jaune-blanc, durant les 28 jours suivant la dernière administration	ARCHIMBAULT et coll.,1978
OXYTETRACYCLINE	25 mg/kg/jour 5 jours I.M.	pas d'inhibition dans le mélange blanc-jaune, ni pendant le traitement ni durant les 3 semaines suivant la fin du traitement	Travaux de la Chaire d'H.I.D.A.C.A (Pr.LAPIE, ENVT)
" " " " "	50 mg/kg/jour 5 jours dans l'eau de boisson, en rationnement individuel	idem	
TYLOSINE	25 mg/kg/jour 3 jours I.M.	pas de résidus dans le blanc, ni dans le jaune, ni dans le mélange blanc-jaune, pendant les 15 jours suivant le traitement	Travaux de la Chaire d'H.I.D.A.C.A (Pr.LAPIE, ENVT)

III. TRAVAUX PERSONNELS

1. MATERIEL ET METHODE

a) Lots d'animaux

24 poules pondeuses, de race Rhode Island, ont été réparties en 4 lots comprenant chacun 6 cases individuelles:

- 1 lot-témoin ne recevant aucun traitement;
- 3 lots traités, chaque lot recevant soit un antibiotique différent, soit un même antibiotique par des voies différentes

Pendant 15 jours avant les essais et pendant la durée de ceux-ci, elles sont nourries avec des aliments ne contenant pas d'antibiotiques.

Les oeufs sont prélevés chaque jour, à la même heure, et conservés au réfrigérateur à+4°C.

b) Antibiotiques étudiés; posologies adoptées et voie d'administration

- BIPENICILLINE (pénicilline procaïne + pénicilline G): 30.000 U.I/kg de poids vif, pendant 5 jours, par voie I.M.

SPECILLINE (benzylpénicilline): 10.000 U.I/kg de poids vif, pendant 3 jours, par voie I.M.

DIHYDROSTREPTOMYCINE: 100 mg/kg de poids vif, pendant 5 jours, voie I.M.

" " " " " " ": I g/litre d'eau de boisson, pendant 5 jours.

NEOMYCINE: 0,25 g/litre d'eau de boisson, pendant 5 jours.

FRAMYCETINE: 150 mg/litre d'eau de boisson, pendant 3 jours.

CHLORAMPHENICOL: 1 g/litre d'eau de boisson, pendant 5 jours.

ERYTHROMYCINE: 0,5 g/litre d'eau de boisson, pendant 3 jours.

" " " " : 25 mg/kg de poids vif, par voie I.M., pendant 3 jours.

LEUCOMYCINE: 15.000 U.I/kg de poids vif, par voie I.M., pendant 5 jours.

" " " ": 36.000 U.I/kg de poids vif, dans l'eau de boisson, pendant 5 jours.

TETRACYCLINE chl.: 0,5 g/litre d'eau de boisson, pendant 5 jours.

c) Technique d'administration

- per os. Nous avons jugé préférable d'administrer les médications orales au moyen d'une sonde oesophagienne, constituée par un tube de plastique souple (15x0,5cm). La posologie en g/l a été calculée selon les besoins quotidiens en eau d'une

Poule pondeuse, c'est-à-dire environ 250ml/jour/par individu.

- voie intra-musculaire. Les injections sont pratiquées dans la masse musculaire du bréchet: l'animal étant placé dos en bas, l'aiguille pénètre dans la moitié antérieure de la masse des pectoraux, à proximité de l'arête osseuse (pour éviter la pénétration dans la cavité générale, qui provoquerait une mort rapide).

- horaire. Les administrations ont lieu chaque jour à la même heure, après la récolte des oeufs.

d) Mise en évidence des résidus d'antibiotiques (méthode bactériologique de diffusion en gélose)

d_1) Souche-test et pH utilisés en fonction de l'antibiotique

(tableau XI)

ANTIBIOTIQUE	SOUCHE-TEST	pH OPTIMAL	pH tampon
BIPENICILLINE	SARCINA LUTEA	pH 6,6	pH 6,0
SPECILLINE	SARCINA LUTEA	pH 6,6	pH 6,0
DIHYDROSTREPTOMYCINE	BACILLUS SUBTILIS	pH 7,8	pH 8,0
NEOMYCINE	BACILLUS SUBTILIS	pH 7,8	pH 8,0
FRAMYCETINE	BACILLUS SUBTILIS	pH 8,5	pH 8,0
CHLORAMPHENICOL	SARCINA LUTEA	pH 6,6	pH 6,8
ERYTHROMYCINE	SARCINA LUTEA	pH 7,8	pH 8,0
LEUCOMYCINE	SARCINA LUTEA	pH 7,8	pH 8,0
TETRACYCLINE (Chl.)	BACILLUS PUMILUS	pH 6,6	pH 6,0

T A B L E A U X I

Formule des différents tampons:

- tampon phosphate pH 8,0 (phosphate monopotassique.....0,5g
  (phosphate dipotassique.....16,7g
  (E.D.....1000ml
- tampon phosphate pH 6,0 (phosphate monopotassique.....8,0g
  (phosphate dipotassique.....2,0g
  (E.D.....1000ml
- tampon phosphate pH 6,8 (phosphate monopotassique.....4,5g
  (phosphate dipotassique.....9,0g
  (E.D.....1000ml

Préparation des différentes souches-tests:

- Bacillus subtilis:
  Le microorganisme est cultivé à 35-37°C pendant 7 jours à la surface du milieu approprié additionné au préalable de 0,0001 p.100 de sulfate de manganèse. Avec de l'eau stérile, la culture est enlevée par lavage, et l'on récupère la suspension, qui est chauffée à 70°C pendant 30 minutes, puis diluée pour obtenir une concentration de spores de 10 à 100 x 10^6/ml. La suspension de spores peut être conservée longtemps à une température ne dépassant pas +4°C.
- Bacillus pumilus:
  Le germe est préparé comme ci-dessus; seule change la température d'incubation: 32°C.
- Sarcina lutea:
  Après récupération des sarcines, par lavage d'une culture sur pente de gélose avec de l'eau stérile, on ensemence avec la suspension obtenue la surface d'une gélose nutritive en boîte de Pétri; après 24 heures d'incubation à 37°C, les colonies développées en surface sont récupérées par lavage avec de l'eau stérile; la suspension des germes est alors préparée comme pour Bacillus subtilis.

d_2) Préparation des milieux en boîtes de Pétri

Formule des milieux : milieu n°1 pour essai des antibiotiques (laboratoire Bio-Mérieux), poudre:

peptone	6 g
biotrypcase	4 g
extrait de levure	3 g
extrait de viande de boeuf	1,5 g
glucose	1 g
gélose	15 g
eau stérile	1000 ml

Préparation des boîtes :

Dans les boîtes d'un diamètre de 9cm, une première couche de gélose vierge est coulée et on la laisse se solidifier; une deuxième couche de gélose ensemencée avec le germe sensible est coulée à la surface de la précédente (30ml de gélose sur une épaisseur de 3 à 4mm).

Après refroidissement, trois cuvettes de 1cm de diamètre sont creusées dans la gélose à l'aide d'un emporte-pièce stérile; la distance entre chaque cuvette est de 4,5cm pour éviter la superposition des zones d'inhibition.

Une goutte d'agar-agar est alors déposée au fond de chaque cuvette,

afin d'éviter la diffusion de l'inoculum sous la gélose. Les boîtes ainsi préparées sont conservées au réfrigérateur à +4°C.

e) Préparation des gammes-étalons d'antibiotiques

Les gammes-étalons sont établies en préparant des dilutions croissantes de chaque antibiotique dans le tampon approprié et en déposant 0,2ml de chaque dilution dans chaque cuvette de la boîte de Pétri ensemencée avec le germe-test approprié.
La lecture du diamètre des zones d'inhibition (après 18 heures d'incubation à l'étuve) se fait à l'aide d'une règle graduée et d'une loupe éclairante.

f) Préparation des oeufs utilisés dans les essais (voir tableau XII)

Les oeufs de chaque lot de poules sont collectés quotidiennement et analysés, pendant 18 jours à partir du premier jour de traitement. Les oeufs sont identifiés par l'indication du lot de provenance (I,II,III,témoin) et, dans chaque lot, 3 oeufs sont choisis au hasard pour servir à la recherche des substance antibactériennes.

Chacun de ces trois oeufs est analysé individuellement, car la vitesse de diffusion des antibiotiques dans l'oeuf peut varier d'un animal à l'autre. De même, on examine séparément le blanc et le jaune, car les vitesses d'apparition et de disparition des résidus dans ces deux milieux n'est pas identique (ANHALT, 1976).

Les pH de tous les blancs sont mesurés au pH-mètre (de type Metrum avec tampons standards Merck), car, pour éviter des variations de l'activité inhibitrice du lysozyme, seuls vont être contrôlés les oeufs dont le pH du blanc se situe dans la zone des pH des oeufs témoins. Cette pratique est justifiée car, au cours de la conservation et en fonction des conditions de celle-ci, l'élévation du pH du blanc va de pair avec une diminution de l'activité du lysozyme. Il est donc indispensable de respecter ces précautions pour pouvoir utiliser la méthode de soustraction dans le calcul de la zone d'inhibition due au résidu (ANHALT, 1976).

Ensuite, les opérations sont identiques pour le blanc et pour le jaune.

On prélève à la pipette 1 ml (de blanc ou de jaune) qu'on dilue dans 1 ml de solution tampon. Après avoir mélangé assez longuement, par aspiration-refoulement, car les deux milieux sont peu miscibles,

LOT-TEMOIN	LOT I	LOT II	LOT III
	FRAMYCETINE	BIPENICILLINE	DIHYDRO STREPTOMYCINE injectable
	ERYTHROMYCINE buvable	LEUCOMYCINE injectable	LEUCOMYCINE buvable
	ERYTHROMYCINE injectable	SPECILLINE G	CHLORAMPHENICOL
	TETRACYCLINE	NEOMYCINE	DIHYDRO STREPTOMYCINE buvable

Temps de latence entre les essais = 15 jours : les animaux ne reçoivent aucun traitement

Durée de chaque essai = 18 jours : administration de l'antibiotique pendant 3 à 5 jours; récolte et analyse des oeufs des divers lots de poules

DISTRIBUTION DES ANTIBIOTIQUES PAR LOTS D'ANIMAUX

ET CALENDRIER DES ESSAIS

T A B L E A U X I I

on dépose 0,2ml de la suspension dans chaque cuvette de la boîte de Pétri, cette dernière opération s'effectuant aseptiquement.

Les boîtes sont laissées à la température ambiante pendant 45 minutes, afin de permettre une prédiffusion de l'antibiotique (cf. Méthodes générales d'analyse). Puis, elles sont placées à l'étuve pendant 18 heures, à une température qui varie selon les souches (voir plus haut en "d").

La lecture du diamètre des zones d'inhibition se fait à l'aide d'une règle graduée et d'une loupe éclairante.

2. RESULTATS

a) Etablissement des courbes-étalons et détermination de la limite de sensibilité des tests microbiologiques mis en oeuvre

Les gammes-étalons préparées avec chaque antibiotique permettent d'obtenir des zones d'inhibition des cultures-tests de diamètre variant en fonction des concentrations d'antibiotiques. Ces valeurs sont reportées sur un papier logarithmique à une entrée: les diamètres sur l'échelle normale et les concentrations sur l'échelle logarithmique.

On peut alors établir la courbe-étalon en traçant une droite d'ajustement passant par plusieurs points expérimentaux alignés.

L'intersection de cette droite et de l'axe des concentrations donne la limite de sensibilité de la méthode, c'est-à-dire la concentration minimale inhibitrice en antibiotique décelable (tableau XIII).

Antibiotiques	Concentration minimale inhibitrice
DIHYDROSTREPTOMYCINE	0,3 µg/ml
ERYTHROMYCINE	0,05 µg/ml
LEUCOMYCINE	0,2 µg/ml
FRAMYCETINE	1 µg/ml
TETRACYCLINE Chl.	0,0065 µg/ml
NEOMYCINE	0,1 µg/ml
BIPENICILLINE	10,0 µg/ml
SPECILLINE G	10,0 µg/ml

CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES

T A B L E A U X I I I

b) Interprétation des essais: les données et leur analyse

b_1 - Données brutes

Douze essais ont été conduits selon le protocole défini en 1b (page 29). Pour chacun d'entre eux, on a procédé, pour chaque oeuf du lot témoin et des lots traités, à la mesure des diamètres des zones d'inhibition des cultures-tests par le blanc et par le jaune.

Dans le cas du jaune ou vitellus, celui-ci ne possédant pas d'activité inhibitrice propre, toute inhibition ne peut provenir que de la présence de résidus d'antibiotiques.

Au contraire, pour l'albumen ou blanc, qui présente toujours une activité inhibitrice spontanée due au lysozyme, les résidus d'antibiotiques ne sont décelables que par comparaison avec les témoins; il faut donc déterminer le diamètre moyen de la zone d'inhibition produite par l'albumen des oeufs témoins et, par différence avec celui obtenu avec les oeufs traités, calculer le diamètre de la zone d'inhibition due à la présence de résidus d'antibiotiques.

Ces diverses données numériques sont colligées quotidiennement et constituent les "données brutes" (tableau XIV).

b_2 - Analyse des données

Les valeurs chiffrées obtenues en 2a (page 35) sont utilisées pour établir les courbes (figures III, IV et V) du taux de résidus dans les milieux de l'oeuf en fonction du temps.

Pour les mesures effectuées à partir de l'albumen, en raison des variations quotidiennes de l'activité inhibitrice du lysozyme, les courbes obtenues sont en "dents de scie". Pour conclure à la présence d'antibiotique, qui se traduit par un "pic" situé au-dessus de la courbe témoin, il est nécessaire de calculer l'"écart-moyen" de la distribution des diamètres d'inhibition des témoins, afin d'éliminer des valeurs non significatives:

$\bar{x}n$ = moyenne journalière des diamètres d'inhibition des témoins.

xin = valeur inférieure journalière des diamètres d'inhibition des témoins.

xsn = valeur supérieure journalière des diamètres d'inhibition des témoins.

n = jour soit 1, 2, 3,....,N.

JOUR / PRODUIT		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
FRAMYCETINE	BLANC	1,60	1,53	1,60	1,58	1,70	1,63	1,70	1,68	1,65	1,68	1,63	1,65	1,68	1,66	1,65	1,62	1,62	1,62
	JAUNE	pas d'inhibition																	
BIPENICILLINE	BLANC	1,55	1,68	1,68	1,50	1,85	1,86	1,70	1,58	1,55	1,56	1,57	1,68	1,70	1,64	1,66	1,73	1,60	1,72
	JAUNE	pas d'inhibition																	
DHS injectable	BLANC	1,6	1,85	1,96	1,77	1,98	1,83	1,65	1,65	1,63	1,60	1,68	1,72	1,60	1,68	1,68	1,68	1,70	1,69
	JAUNE	0	0	1,40	1,55	1,65	1,65	1,65	1,80	1,55	1,65	1,60	1,40	1,30	0	1,20	0	0	0
ERYTHROMYCINE buvable	BLANC	1,88	1,85	1,78	1,68	1,56	1,55	1,50	-	1,54	1,55	1,56	1,62	1,51	1,48	1,46	1,43	1,45	1,42
	JAUNE	pas d'inhibition																	
LEUCOMYCINE injectable	BLANC	1,88	1,85	1,77	1,56	1,62	1,60	1,48	1,70	1,58	1,61	1,61	1,60	1,58	1,45	1,42	1,46	-	-
	JAUNE	pas d'inhibition																	
LEUCOMYCINE buvable	BLANC	1,95	1,90	1,78	1,55	1,60	1,57	1,53	1,66	1,61	1,52	1,61	1,60	1,60	1,48	1,45	1,50	1,45	1,47
	JAUNE	pas d'inhibition																	
ERYTHROMYCINE injectable	BLANC	1,78	1,80	1,90	1,50	1,62	1,63	1,57	1,63	1,65	1,54	1,66	1,59	1,55	1,52	1,53	1,52	1,52	
	JAUNE	pas d'inhibition																	
SPECILLINE G	BLANC	1,53	1,62	1,73	1,60	1,57	1,62	1,62	1,61	1,55	1,57	1,57	1,65	1,68	1,68	1,57	1,50	1,57	1,57
	JAUNE	pas d'inhibition																	
CHLORAMPHENICOL	BLANC	1,58	1,58	1,57	1,64	1,60	1,57	1,60	1,58	1,49	1,60	1,52	1,64	1,71	1,64	1,50	1,38	1,50	1,59
	JAUNE	pas d'inhibition																	
TETRACYCLINE chl.	BLANC	1,82	1,84	-	1,85	1,93	1,73	1,70	1,72	1,80	1,76	1,78	1,65	1,55	1,66	1,68	1,75	1,68	1,65
	JAUNE	pas d'inhibition																	
NEOMYCINE	BLANC	1,53	1,55	1,55	1,57	1,62	1,62	1,55	1,57	1,55	1,62	1,65	1,57	1,54	1,51	1,42	1,48	1,49	1,46
	JAUNE	pas d'inhibition																	
DHS buvable	BLANC	1,57	1,58	1,60	1,57	1,46	1,57	1,55	1,57	1,60	1,62	1,72	1,50	1,51	1,44	1,46	1,50	1,49	1,52
	JAUNE	pas d'inhibition																	

DIAMETRES MOYENS D'INHIBITION (mm) (0 = pas d'inhibition)
(- = pas de croissance bactérienne)

T A B L E A U X I V

" D O N N E E S B R U T E S "

On calcule la moyenne générale des moyennes journalières par la formule:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{n=1}^{N} \bar{x}n}{N}$$

On obtient alors l'"écart-moyen":

$$E.M = \frac{\frac{\sum_{1}^{N} |xsn - \bar{X}|}{N} + \frac{\sum_{1}^{N} |xin - \bar{X}|}{N}}{2}$$

Cet écart-moyen est alors reporté sur la courbe sous la forme d'une zone hachurée; les valeurs situées à l'intérieur de cette zone ne sont pas significativement différentes des valeurs fournies par les oeufs du lot-témoin (cf.fig.III-IV-V).

Pour les mesures réalisées à partir des échantillons de vitellus, le jaune ne possédant pas de lysozyme, il est inutile de faire cette opération. Il suffit de porter sur la courbe les valeurs des diamètres d'inhibition supérieures à 1cm (diamètre des cuvettes) (cf.fig.IIIb).

L'étude des différentes courbes permet de distinguer 4 cas:

premier cas : pas d'inhibition due à des résidus d'antibiotiques ni dans le blanc, ni dans le jaune:

- DIHYDROSTREPTOMYCINE buvable
- NEOMYCINE
- FRAMYCETINE
- LEUCOMYCINE buvable et injectable
- ERYTHROMYCINE buvable
- CHLORAMPHENICOL

deuxième cas: effet inhibiteur "douteux" des échantillons d'albumen:

BIPENICILLINE (fig.V) :
un seul point est significatif et il est très proche de la zone témoin.

TETRACYCLINE Chl. (fig.IVb) :
les cultures de Bacillus pumilus ont une croissance difficile et les zones d'inhibition sont floues.

troisième cas : inhibition significative par le blanc (fig. IIIa et IVa):

ERYTHROMYCINE injectable

SPECILLINE G.

quatrième cas : inhibition significative par le blanc et par le jaune:

DIHYDROSTREPTOMYCINE injectable (fig.IIIb)

Pour ces trois derniers cas, les concentrations en antibiotiques dans les milieux de l'oeuf sont calculés en comparant les diamètres d'inhibition dus à la présence de résidus d'antibiotiques aux diamètres d'inhibition obtenus avec des quantités d'antibiotiques connues, c'est-à-dire avec les gammes-étalons.

Ces données sont reportées dans le tableau XV.

ANTIBIOTIQUES		J O U R S																	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
ERYTHROMYCINE injectable	B	-	0,09	0,1	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DIHYDROSTREPTOMYCINE injectable	B	-	-	1,0	1,2	0,6	0,8	0,54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	J	-	-	-	1,4	3,5	6,0	6,0	6,0	12	3,5	7,4	4,5	1,4	0,85	-	-	-	-	-
TETRACYCLINE Chl.	B	-	0,0088	0,008	0	0,0076	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	J	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BIPENICILLINE	B	-	-	-	15,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SPECILLINE G	B	-	-	16,0	35,0	13,5	-	12,5	12,5	13,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

T A B L E A U X V

- : pas d'inhibition

0 : pas de croissance bactérienne dans les boîtes de Pétri

valeurs numériques : concentration en µg/ml

3. DISCUSSION

Si l'on compare les résultats obtenus avec les résultats acquis par d'autres auteurs, nous pouvons observer quelques convergences (tableau XVI).

Les divergences concernant la présence de résidus dans le vitellus, dans les cas de la BIPENICILLINE et de la TETRACYCLINE, peuvent peut-être s'expliquer par des posologies différentes.

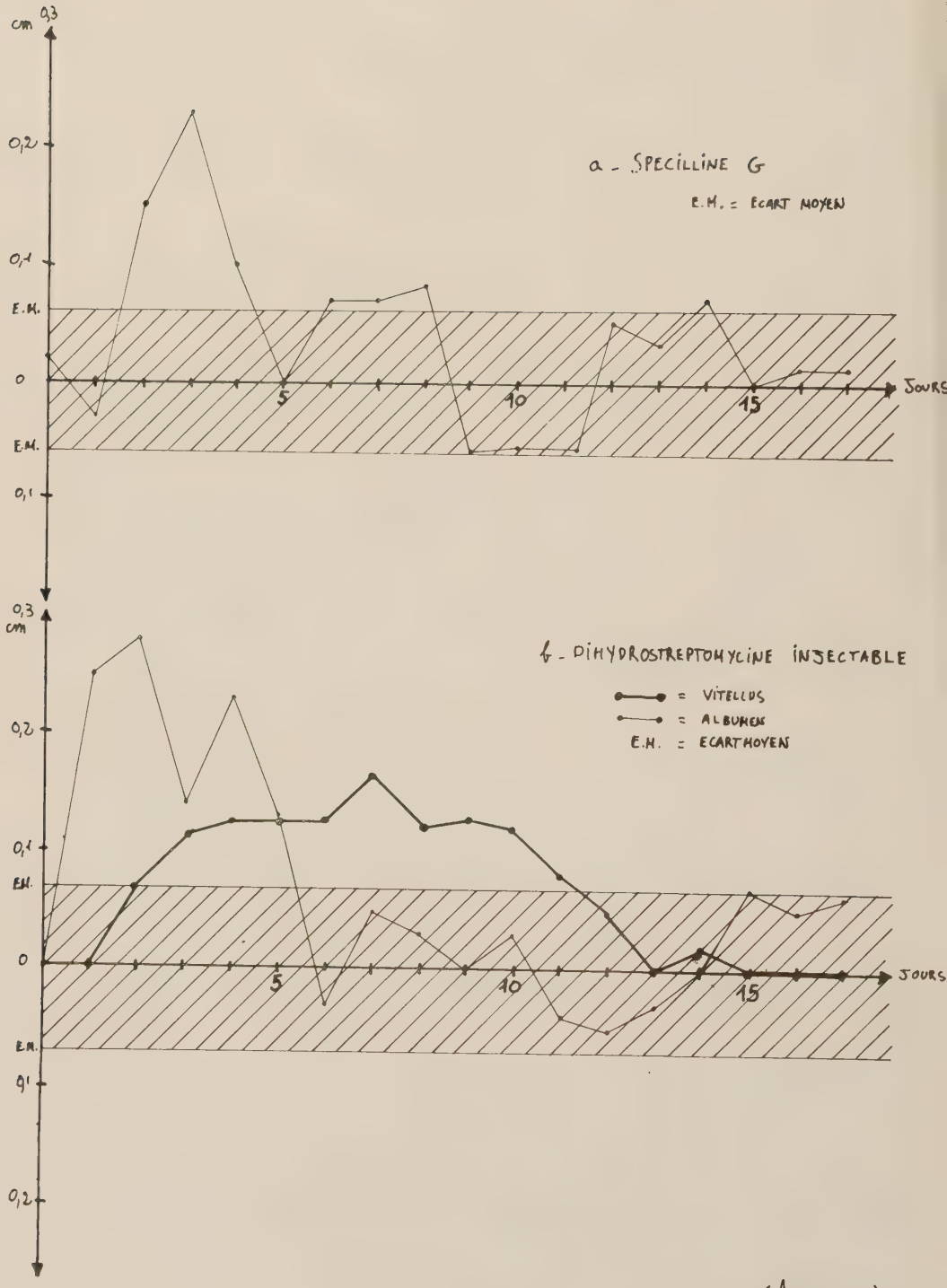
Cela amène à reconsidérer l'intérêt de l'étude séparée de l'albumen et du vitellus préconisée par la majorité des auteurs. Des rapports peuvent être établis entre les données anatomophysiologiques de la formation de ces milieux et les résultats obtenus.

Nous avons vu que le jaune subissait différentes phases d'accroissement, la plus importante étant celle d'"accroissement rapide", qui dure de 7 à 11 jours et durant laquelle la majorité des composants du vitellus d'origine sanguine et hépatique est incorporée.

Si des résidus d'antibiotiques peuvent être apportés dans la grappe ovarienne, ils imprègnent non seulement l'ovocyte "mûr", prêt à être pondu, mais aussi tous ceux qui sont en phase d'accroissement rapide. Cela entraîne une persistance assez longue des résidus, comme dans le cas de la DIHYDROSTREPTOMYCINE Injectable (DHS): 14 jours. Cette imprégnation est probablement stoppée par l'ovulation et l'apparition de la membrane vitelline au niveau du pavillon.

L'albumen se dépose au contraire uniquement sur l'ovocyte après la déhiscence folliculaire, au cours de la traversée de l'oviducte. Si des antibiotiques peuvent diffuser à travers les parois de l'oviducte, ils peuvent alors imprégner l'albumen d'un oeuf en formation, mais leur présence dans le blanc des oeufs suivants ne dépend que de la persistance de leur passage au travers de l'oviducte. Pour la DIHYDROSTREPTOMYCINE, les résidus sont présents plus longtemps dans le jaune que dans le blanc (5 jours), mais leur apparition est plus rapide dans ce dernier (48 heures pour l'albumen contre 72 heures pour le vitellus). En effet, si des résidus parviennent au niveau de l'appareil génital, ils peuvent imprégner l'albumen d'un oeuf en formation, dont le jaune sera probablement "protégé" de la contamination par sa membrane vitelline. Il faut attendre l'ovulation de l'ovocyte "le plus mûr", contaminé au niveau de l'ovaire, pour observer des traces d'antibiotiques dans ce dernier.

Notons par ailleurs que, dans les cas où des inhibitions n'ont été décelées que sur les blancs, les concentrations d'antibiotiques calculées à l'aide des courbes-étalons (ERYTHROMYCINE et TETRACYCLINE) sont plus faibles que celles calculées dans le cas de la DIHYDROSTREPTOMYCINE.

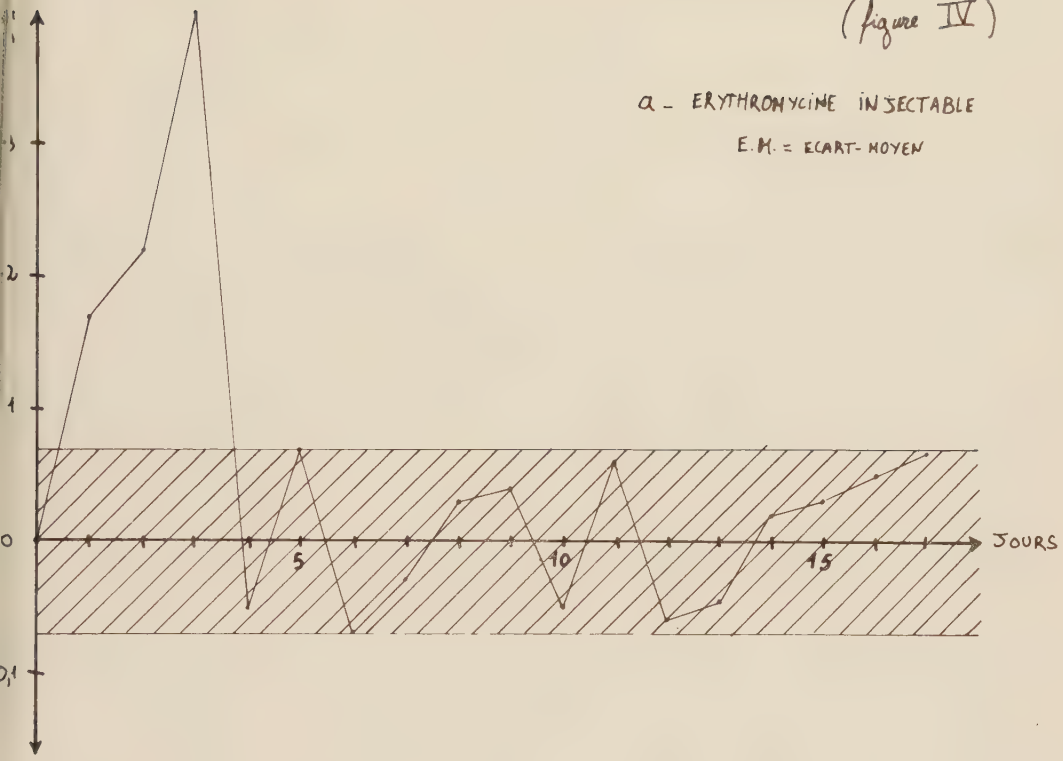

cm
0,3
0,2
0,1
E.M.
0
E.M.
0,1
5
10
15
JOURS
a - SPECILLINE G
E.M. = ECART MOYEN
cm
0,3
0,2
0,1
E.M.
0
E.M.
0,1
0,2
5
10
15
JOURS
b - DIHYDROSTREPTOMYCINE INJECTABLE
= VITELLUS
= ALBUMEN
E.M. = ECART MOYEN

(figure III)

(figure IV)

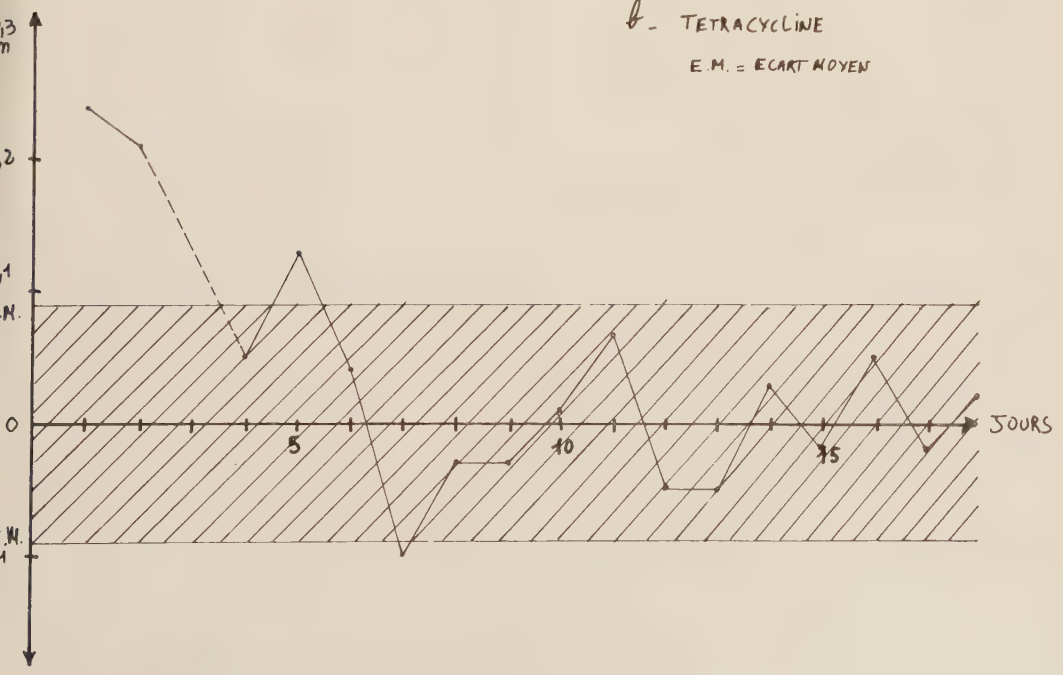
a - ERYTHROMYCINE INJECTABLE

E.M. = ECART-MOYEN



b - TETRACYCLINE

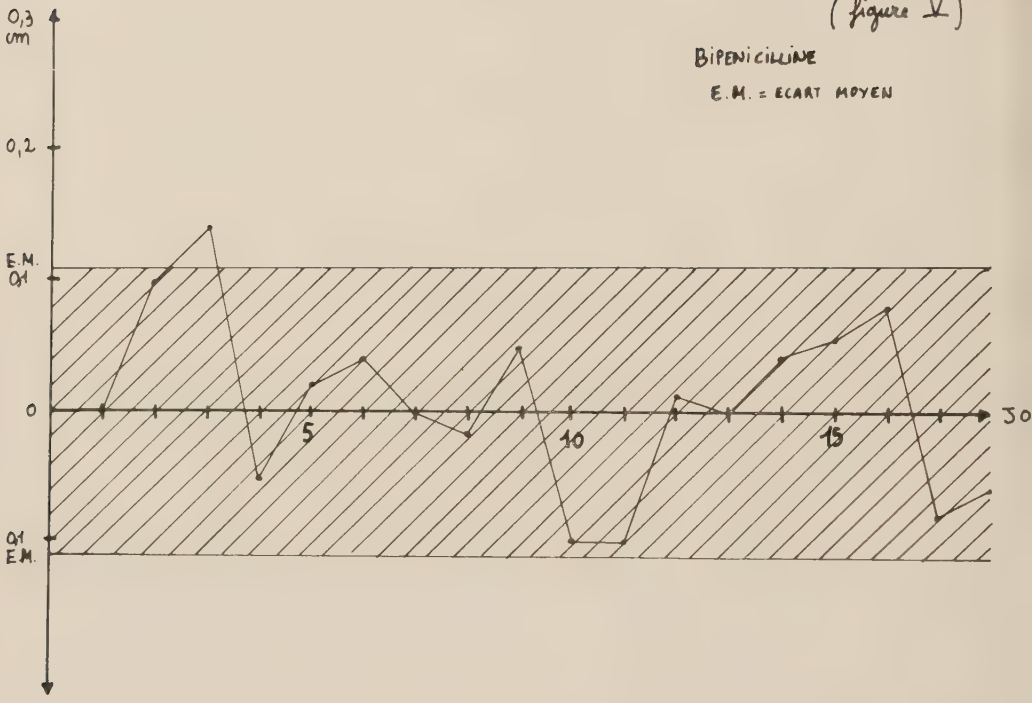
E.M. = ECART MOYEN



(figure V)

BIPENICILLINE

E.M. = ECART MOYEN



ANTIBIOTIQUES	RESULTATS D'AUTRES AUTEURS	RESULTATS PERSONNELS
BIPENICILLINE	Blanc: inhibition partielle le 2ème et 3ème jours Jaune: 5ème et 6ème jours. (SCHEELHAAS, 1974)	Blanc: inhibition le 3ème jour. Jaune: pas d'inhibition.
STREPTOMYCINE (dihydrostreptomycine dans notre cas)	Blanc: inhibition du 2ème au 5ème jour. Jaune: inhibition du 4ème au 10ème jour. (SCHEELHAAS, 1974)	Blanc: inhibition du 2ème au 6ème jour. Jaune: inhibition du 3ème au 13ème jour.
TETRACYCLINE	Blanc: inhibition du 1er au 4ème jour. Jaune: inhibition le 5ème jour, pas d'inhibition après le 10ème jour. (ANHALT et coll., 1976)	Blanc: inhibition du 1er au 4ème jour. Jaune: pas d'inhibition.
CHLORAMPHENICOL	Blanc et Jaune: pas d'inhibition. (SCHEELHAAS, 1974)	Blanc et Jaune: pas d'inhibition.

T A B L E A U X V I . TABLEAU COMPARATIF DES RESULTATS

Diverses hypothèses peuvent alors être proposées:

- il existerait un "seuil de passage" de chaque antibiotique, pour le jaune et pour le blanc, le premier étant supérieur au second;
- ce seuil dépassé, l'imprégnation du jaune serait plus importante que celle du blanc (d'après les taux calculés dans ces différents milieux, dans le cas de la DIHYDROSTREPTOMYCINE);
- la persistance de résidus dans le jaune serait plus longue que dans le blanc;
- l'apparition de résidus dans le blanc survient plus rapidement que dans le jaune.

La vérification de ces hypothèses pourrait être faite si l'on connaissait parfaitement l'origine des constituants de l'oeuf et leur mécanisme de passage, ce qui n'est pas le cas à l'heure actuelle.

En fonction de ces données, des temps d'attente différents pourraient être fixés pour le jaune et pour le blanc, qui sont souvent employés séparément dans certaines industries alimentaires. Mais, pour éviter certaines erreurs ou fraudes, il est préférable de fixer ces temps d'attente en fonction de la persistance la plus longue, d'autant plus qu'il n'est pas exclu que des phénomènes de diffusion se produisent entre les composants de l'oeuf pendant sa conservation.

Les résultats obtenus au cours de nos essais peuvent alors servir à calculer ces temps, dans les cas où il y a passage de résidus. A titre de précaution, deux jours sont ajoutés aux délais durant lesquels une inhibition due à la présence d'antibiotiques a été décelée, pour garantir une "marge de sécurité". Ce protocole est habituel et la 49ème note technique PRO PHARMACOPOEA(1978)définit ainsi des temps d'attente supérieurs de 2 jours aux délais obtenus dans les études expérimentales, pour tenir compte en particulier de la limite de sensibilité des tests microbiologiques et être assuré de la quasi-disparition de toute trace de résidu.

ANTIBIOTIQUES	VOIES D'ADMINISTRATION		RESIDUS DECELABLES	TEMPS D'ATTENTE
	voie orale	voie I.M.		
LEUCOMYCINE	*		0	0
		*	0	0
FRAMYCETINE	*		0	0
NEOMYCINE	*		0	0
CHLORAMPHENICOL	*		0	0
ERYTHROMYCINE	*		0	0
		*	+(3j.)	5 jours
TETRACYCLINE Chl.	*		+(4j.)	6 jours
SPECILLINE G		*	+(8j.)	10 jours
BIPENICILLINE		*	+(3j.)	5 jours
DIHYDROSTREPTOMYCINE	*		0	0
		*	+(13j.)	15 jours

T A B L E A U X V I I . TEMPS D'ATTENTE PROPOSES

CONCLUSION

Il y a des risques réels de contamination des constituants de l'oeuf par des résidus d'antibiotiques, après l'utilisation thérapeutique de ces substances chez la poule pondeuse. Il faut donc définir un temps d'attente avant la livraison à la consommation de ces produits. Celui-ci sera modulé en fonction du produit administré et de la voie d'administration utilisée, car la présence de résidus dépend de ces deux paramètres.

La méthode de détection des résidus d'antibiotiques par diffusion en gélose, malgré ses carences (manque de reproductibilité, inapplicable à certains antibiotiques), apparaît comme une méthode simple, bon marché et sensible; elle a en outre l'avantage de s'appliquer à d'autres productions que l'oeuf. C'est elle qui a permis de définir les délais déjà fixés, et elle servira sans doute longtemps encore de méthode pour contrôler la salubrité des denrées alimentaires d'origine animale.

Des techniques analytiques plus perfectionnées vont se développer parallèlement, dont la sensibilité et la spécificité seront beaucoup plus grandes mais au risque de voir les délais d'attente s'allonger inconsidérément si on maintient le principe de l'"absence de tolérance" pour les résidus d'antibiotiques (49ème note technique PRO PHARMACOPOEA).

Il apparaît donc urgent que des "normes de tolérance" puissent être définies sur le plan international (NOUWS, 1979), afin que l'éleveur puisse continuer à bénéficier de ces thérapeutiques irremplaçables, sans que la santé du consommateur soit exposée à des risques inacceptables.

Vu : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur LABIE

Vu : Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

Vu : Le Président de la Thèse

Professeur MONNIER

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
TOULOUSE, le 31 mars 1980
P/ LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
PAUL SABATIER, et par délégation
LE VICE-PRESIDENT,

UNIVERSITE PAUL SABATIER - TOULOUSE

Professeur L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

ANHALT (G.), WENZEL (S.) et CONRAD (F.): "Modelluntersuchungen zur Rückstandbildung im Hühnerei nach therapeutischer Verabreichung antibakteriell wirksamer Substanzen". Archiv. für Lebensmittel hygiene, 27,n°6,201-205,1976.

ARCHIMBAULT (P.), BOUTIER (C.) et MUSCAT (G.): "L'ampicilline chez la volaille. Etude des résidus après administration per os chez la poule pondeuse". Revue Méd.Vét.,129,11,1541-1551,1978.

BAIN (J.M.) et HALL (J.M.): "Observations on the development and structure of the vitelline membrane of the hen's egg: an electron microscopic study". Austr.J.Biol.Sci.,22,653-665, 1969 .

BEGUE (W.J.) et KLINE (R.M.): "Semiquantitative microbiological residue method for hygromycine B in chicken eggs". J.Ass.Off.Anal.Chemists,56, n°1,20-22,1973.

BLUM (J.C.): "Le métabolisme de la riboflavine chez la Poule pondeuse", vol.1,161 p., éd. Hoffman-La Roche,Paris,1967.

BLUM (J.C.): "L'oeuf de consommation". Séance de travail 17-18 mars 1970, Station de recherches avicoles INRA,97-104,1970.

CHABBERT (Y.A.): "Aspects médicaux des plasmides de résistance aux antibiotiques". Bull.Acad.Méd.Belge,131,87-94,1976.

DAVIS (D.E.): "The regression of the avian post-ovulatory follicle". Anat.Rec.,82,297-305,1962.

GRASSÉ (P.): "Traité de Zoologie, Anatomie systématique et Biologie". Ed: Masson,XV,355-377,1950.

GREENWOOD (A.W.): "Perforation of the oviduct in the domestic fowl". Transact.on the dynamics of development,10,81-90,1935.

HAHN (E.N.), CHURCH (R.B.), GORBMAN (A.) et WILMOT (L.): "Oestrone and progesterone induced synthesis of new R.N.A. species in the chick oviduct". Gen.Comp.endocrinol.,10,438-442,1968.

HEALD (P.J.) et Mc LACHLAND (P.M.): "The synthesis of phosvitine in vitro by slices of liver from the laying hen". Biochem.J.,83,346-355, 1965.

KATZ (S.E.), FASSBENDER (C.A.) et DOWLING (J.J.)Jr:"Oxytetracycline residues in tissue, organs and eggs of poultry fed supplemented rations". J.Ass.Off.Anal.Chemists,56,n°1,77-81,1973.

KATZ (S.E.), FASSBENDER (C.A.), DINNERSTEIN (P.S.) et DOWLING (J.J.) Jr: "Effects of feeding penicillin to chickens". J.Ass.Off.Anal.Chemists, 57,n°3,522-526,1974.

LECLERCQ (R.): "Utilisation de l'acide élaïdique pour l'étude du métabolisme des lipides chez la Poule pondeuse". Arch.Sci.Physiol.,21, 299-322,1967.

LUCAS (J.M.S.): "Excretion in eggs by pullets following treatment". Communication personnelle, 1964.

MANDELESS (S.) et DUCAY (E.D.): "Site of egg white proteins formation". J.Biol.Chem.,237,3196-3199,1962.

MARSHALL (F.H.A.) et HAMMOND (J.): "Fertility and animal breading". Ministry Agricult.a.Fisheries,bull.39,1-42,1943.

MARZA (V.D.) et MARZA (E.V.): "The formation of the hen's egg". Quat. Jour.microsc.sci.,78,133-189,1939.

NOUWS (J.F.M.), Van SCHOTHORST (M.) et ZIV (G.): "A critical evaluation of several microbiological test methods for residues of antimicrobiological druggs in ruminants". Archiv.für Lebensmittelhygiene,30,1-40,1979.

NOUWS (J.F.M.): "Techniques de dosage des résidus d'antibiotiques et méthodes de fixation des délais d'attente". Revue Méd.Vét.,130,8-9, 1193-1196,1979.

PEARL (R.) et CURTISS (M.R.): "Studies on the physiology of reproduction in the domestic fowl". J.of Zool.,12,5,99-132,1918.

PFAENDLER (H.R.), STOHLER (W.) et SCHAUB (H.): "Versuche zur Rückstandsbestimmung von Aureomycin in Hühnereiweiss". Mitt.Geb. Lebensmittel unders.Hyg.Schweitz,64,n°2,257-261, 1973 .

PRO PHARMACOPOEA, 49ème note technique: "Résidus des médicaments vétérinaires dans les denrées d'origine animale". Annales pharmaceutiques françaises,36,n°9-10,499-501,1978.

ROMANOFF (A.L.) et ROMANOFF (A.J.): "The avian egg",vol.1,918 pages, éd: John Wiley,New-York,1949.

SCHELLHAAS (G.): "Untersuchungen zur Frage des Hemmstoffnachweiss bei Hühnerei". Fortssch. der Vet.Med.,20, 272-275,1974.

SISODIA (C.S.) et DUNLOP (R.H.): "Chloramphenicol residue in eggs". Can.Vet.J.,13,279-282,1972.

STURKIE (P.D.): "Avian physiology",vol.1,766 pages,2ème édit., Cornell Univ.Press.,Ithaca,New-York,1965.

WILLIAMS (G.): "Serum proteins and the livetins of hen's egg yolk". Biochem.J.,83,346-355,1962.